Lane Medical Library

Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der Städtischen Krankenanstalt Kiel (Leiter: Prosektor Dr. Emmerich)

Ueber die Brauchbarkeit von Pferdenebennierenextrakt als Antigen für die Wassermannsche Reaktion,

zugleich ein Beitrag zum Wesen der Wassermannschen Reaktion

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Christian Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Gerd Stern-Sträter
aus Düsseldorf

Jena
Gustav Fischer
1932

Aus dem Pathologisch-bakteriologischen Institut der Städtischen Krankenanstalt Kiel (Leiter: Prosektor Dr. Emmerich)

Ueber die Brauchbarkeit von Pferdenebennierenextrakt als Antigen für die Wassermannsche Reaktion,

zugleich ein Beitrag zum Wesen der Wassermannschen Reaktion

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Christian Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Gerd Stern-Sträter
aus Düsseldorf

Jena
Gustav Fischer
1932

Referent: gez. Dold.

Zum Druck genehmigt: gez. Rominger.
z. Zt. Dekan.

Abdruck aus der
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
Bd. 75. 1932.
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Die Anschauungen über das Wesen der WaR. haben im Laufe der Zeit manche Wandlung erfahren. Ohne auf die ursprüngliche Wassermannsche Theorie von der spezifischen Antigen-Antikörperreaktion einzugehen, möchte ich hier nur kurz einige Ergebnisse der Forschung nach den im Antigen und im Luesserum befindlichen Reaginen zusammenfassen und besonders auf die Rolle der Lipoide hinweisen.

Als Wassermann, Porges, Meier, Landsteiner, Müller, Pötzl, Levaditi, Yamanouchi etwa gleichzeitig entdeckten, daß die bei der WaR. wirksamen Stoffe der Organextrakte alkohollöslich, also Lipoide sind, waren manche Forscher geneigt, den im Serum befindlichen Reaktionsfaktor als Antikörper gegen diese Lipoide zu deuten. Damit tauchte die Frage auf, ob die Lipoide überhaupt antigene Eigenschaften besäßen, also imstande seien, Antikörper zu erzeugen.

Die meisten Autoren nahmen an, daß Lipoide nicht als Antigene fungieren könnten. Nur einige Forscher, wie K. Meyer, Much, Kleinschmidt, P. Schmidt beobachteten bei Lipoiden Antigeneigenschaften, jedoch bedeutend schwächer als beim Eiweiß. Nach Jermoljewa üben z. B. Cholesterin und Lezithin keine immunisierende Wirkung aus, wohl aber, wenn sie in Anlehnung an die Versuche von Landsteiner und Simms, Sachs, Klopstock und Weil, über die an späterer Stelle noch berichtet wird, mit Schweineserum aktiviert werden. Immunisierung mit einem Gemisch von Cholesterin und Lezithin ruft das Auftreten von Immuneigenschaften gegenüber einem dieser Faktoren hervor. Ein Aetherextrakt aus Eidotter wirkt ebenfalls als Antigen, was von Guggenheim bestätigt wird.

Mit der Frage: Cholesterin als Antigen beschäftigten sich auch Plaut und Kassowitz. Sie kommen, ebenso wie de Gaetani, zu dem Schluß, daß die verstärkende Wirkung des Cholesterins gegenüber lipoidarmen Extrakten

bei der WaR., die man sich ja durch die sogenannte Cholesterinisierung der Organextrakte zunutze macht, nicht auf seiner Antigenwirkung beruht, sondern auf seiner Fähigkeit, die physikalisch-chemische Extraktstruktur zu verbessern, nach Rona und Deutsch in dem Sinne, daß das Cholesterin zu einer Vergröberung der Dispersität der als Reagentien zum serologischen Luesnachweis dienenden Lipoidverdünnungen führen und in ähnlicher Weise wirken würde, wie die langsame, fraktionierte Verdünnung der Extrakte nach Sachs und Rondoni.

An Stoffen, die bis zu einem gewissen Grade den Organextrakt bei der WaR. ersetzen können, wurden angegeben von Wassermann, Porges und Meier das Lezithin, von Levaditi und Yamanouchi gallensaure Salze, von Fleischmann Cholesterin und Vaseline, von Sachs und Altmann Seifen, besonders oleinsaures Natron.

Hatte man so den im Antigen wirksamen Stoff als ein auch in normalen Organen vorkommendes Lipoidkolloid erkannt, so hatte in der Forschung nach dem Wesen der im Serum befindlichen Luesreagine mit der Zeit immer mehr die Ansicht Raum eingenommen, daß es sich lediglich um ins Blut übergetretene Organsubstanzen handle.

Hier trennten sich zwei Richtungen. Die eine glaubte, in einer Vermehrung bzw. einer erhöhten Labilität der Serumglobuline den wesentlichen Faktor gefunden zu haben. So stellte sich auch Weisbach in Anlehnung an frühere Arbeiten und Anschauungen die WaR. als eine einfache Eiweißfällungsreaktion vor, die ausschließlich die Tatsache einer verschieden starken Labilisierung der Serumglobuline zum Ausdruck bringe. Das ist um so interessanter, als Weisbach damit nicht nur die alte spezifische Antigen-Antikörpertheorie ablehnte, sondern darüber hinaus der WaR. jeglichen immunbiologischen Charakter zu nehmen und sie als einen physikalisch-chemischen Vorgang darzustellen suchte. Wörtlich sagte er zu seinen Versuchen: „Irgendwelche Anhaltspunkte dafür, daß bei der WaR. spezifischen, ambozeptorartigen Luesreaginen, gleich welcher Herkunft, irgendeine Rolle zukommt, konnten bei den vorstehenden Untersuchungen über den Mechanismus dieser Reaktion nicht gefunden werden".

P. Schmidt hielt durch die Arbeiten von Porges und seinen Mitarbeitern, ferner Friedemanns, den Nachweis für erbracht, daß die WaR. mit großer Wahrscheinlichkeit in der Globulinfraktion des Serums vor sich gehe, und deutete dies so, daß zwischen den Globulinen des Serums und dem Extraktkolloid eine starke Affinität bestehe, eine Reaktion zwischen diesen beiden im Normalserum aber durch die Schutzwirkung der Albumine verhindert oder doch stark verzögert werde. Im Luesserum aber seien die Globuline eben qualitativ oder quantitativ überwiegend.

Wesentlich mehr Anklang fand jedoch die andere Richtung, in welcher vor allem Sachs, Klopstock und Weil auf Grund ihrer Versuche zu der auch von Wassermann vertretenen Auffassung kamen, daß die syphilitische Blutveränderung die Folge einer Antikörperbildung gegen körpereigene Gewebslipoide sei; die Möglichkeit einer Lipoidantikörperbildung durfte nach den schon beschriebenen Versuchen ja als erwiesen gelten. Ein aseptischer Gewebezerfall, wie z. B. bei Gravidität oder Geschwulstkrankheiten, ist nach Ansicht

der Autoren wirkungslos: die Autoantikörperbildung finde nur dann statt, wenn die freigewordenen Lipoide sich mit bestimmten Substraten, wie denjenigen des Schweineserums bei den erwähnten Versuchen, und mutmaßlich auch denjenigen der Spirochäten, paaren könnten. Warum die Lipoide erst bei einer derartigen Koppelung zu Antigenen würden, sei nicht ohne weiteres zu beantworten. Naheliegend erscheine die Annahme, daß die Lipoide im Organismus nur deswegen keine Antigene seien, weil sie durch ihre enge Verknüpfung mit den Eiweißstoffen, sei es in Form von Eiweiß-Lipoid-Verbindungen, sei es in Form von „Umhüllungen", ihrer biologischen Reaktionsfähigkeit im immunisatorischen Sinne entzogen seien. In Verbindung aber mit fremden Substraten, womöglich echten, fremdartigen Antigenen, diene ihnen die fremde Materie gewissermaßen als Schlepper an den Ort der Reizwirkung. Die Spirochäten allein spielen nach H. Sachs als Antigene neben den zerfallenen Gewebslipoiden nur eine untergeordnete Rolle.

Auch Georgi und Fischer, denen mittels Absorptionsversuchen der Nachweis von Gehirn-, Herz- und Hodenlipoidantikörpern im syphilitischen Serum gelungen ist, sind der Ansicht, daß es sich bei der WaR. nicht um eine Reaktion auf Spirochäten handelt, wie ja auch die Versuche von Kroó und Schultze gezeigt haben, da beim Menschen im Gegensatz zum Kaninchen — auch nach Georgi, Fischer und Prausnitz — nach Immunisierung mit abgeschwächten Spirochäten eine positive Reaktion nicht auftritt. Auf Grund dieser Versuche wird die syphilitische Blutveränderung nach Anschauung der Autoren durch zwei Faktoren hervorgerufen, durch Antikörper auf Spirochäten und durch Antikörper gegenüber körpereigenen Organsubstanzen, jedoch dürfte es sich bei der WaR. mit alkoholischen Extrakten aus nichtsyphilitischen Organen lediglich um den Nachweis der Organantikörper handeln. Diese entstehen nach allgemeiner Anschauung unter Einwirkung der Spirochäten, was durch das Ergebnis der Versuche von Hoeltzer und Ssuschkawa mit Pallida-Aufschwemmung bzw. alkoholischem Pallida-Extrakt als Antigen auch höchst wahrscheinlich gemacht wird.

Diese heute wohl vorherrschende Auffassung von der WaR. als einem immunbiologischen Prozeß, bei dem die unter Einwirkung der Spirochäten entstandenen Autoantilipoide in Verbindung mit dem Antigen treten, wird allerdings durch neuere Arbeiten von Boattini und Nonnis wieder in Frage gestellt.

Im Hinblick nun auf die oben beschriebene und allgemein anerkannte Bedeutung des Lipoidgehaltes der Antigene bei der WaR. wurden im Pathologisch-Bakteriologischen Institut der Städtischen Krankenanstalten Kiel Versuche angestellt, bei denen als Antigen der Extrakt aus einem Organ benutzt wurde, dessen Lipoidgehalt und Speicherungsfähigkeit für Lipoide weitgehend erforscht ist, der Nebenniere. Nachdem sich bei diesen Versuchen, über die bereits bei der 18. Tagung der Deutschen Pathologischen Gesellschaft in Jena (1921) kurz berichtet wurde, gezeigt hatte, daß bei

hohem Lipoidgehalt der Nebennieren der aus ihnen hergestellte Extrakt ein in hohem Grade zuverlässiges Antigen für die WaR. gibt, ging man dazu über, die Brauchbarkeit tierischer Nebennierenextrakte zu prüfen, und zwar wurden verwandt Rinder- und Pferdenebennieren. Durch die Untersuchungen von Heß-Taysen und andere ist es bekannt, daß gerade die Nebenniere vom Pferd einen sehr hohen Lipoidgehalt aufweist, während beim Rind wesentlich niedrigere Werte gefunden werden. So konnte Taysen nachweisen, daß bei einer seiner untersuchten Pferdenebennieren etwa der vierte Teil der Trockensubstanz des Organs aus Cholesterinestern bestand. Die Vorversuche fielen sehr zufriedenstellend aus, es zeigte sich, daß der Extrakt absolut spezifisch arbeitete. Seit etwa vierzehn Jahren wird nun in dem genannten Institut bei der WaR. neben dem Extrakt aus luetischer Fötenleber und einem Cholesterin-Rinderherzextrakt auch der Pferdenebennierenextrakt als Antigen benutzt, und zwar im ganzen in etwa 100000 Fällen.

Hergestellt wird der Extrakt nach der üblichen Methode: Ein Teil Nebenniere plus 8 Teile 96proz. Alkohols werden 24 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt, dann 14 Tage stehen gelassen. Die sich bildende Oberschicht wird abgegossen, filtriert und das Filtrat mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt mit negativen, positiven und schwach positiven Seren austitriert. Der Extrakt ist außerordentlich haltbar, er bewahrt seine Wirkung ein halbes bis dreiviertel Jahr. Dann wird er langsam schwächer und muß in stärkerer Dosis gebraucht werden.

Um einen Ueberblick über die Brauchbarkeit des Extraktes zu bekommen, sind nun im folgenden die Untersuchungsergebnisse der Jahre 1925—1930 zusammengestellt unter besonderer Berücksichtigung der Resultate des Pferdenebennierenextraktes im Vergleich zu denen des Fötalleber- und des Cholesterinherzextraktes.

Untersucht wurden im ganzen 35168 Sera, von denen 267 als unbrauchbar ausscheiden, zum Teil wegen zu geringer Menge, zum Teil weil nur mit einem oder zwei Extrakten untersucht, zum Teil auch wegen Eigenhemmung. 29 029 Sera reagierten mit allen drei Extrakten sicher negativ. Von den restlich 5612 interessieren in erster Linie einmal die, welche mit dem Pferdenebennierenextrakt positiv, mit den beiden anderen aber sicher negativ reagierten. Das sind im ganzen 18 Fälle, und zwar ergaben 6 ein schwach positives (+), weitere 6 ein einfach positives, +, 2 ein ein- bis zweifach positives, + (+), und 4 ein zweifach positives, ++, Resultat mit dem Pferdenebennierenextrakt. Bei 5 Seren wurde als

klinische Diagnose sichere Lues genannt, bei 3 behandelte Lues, bei 6 wurde Luesverdacht angegeben, und 4 nichtluetische Erkrankungen. Doch selbst bei diesen letzteren Fällen kann von einer sicher unspezifischen Hemmung noch nicht gesprochen werden, da die Sera meist unter vorläufigen klinischen Diagnosen in ein selbständig arbeitendes serologisches Institut zur Untersuchung geschickt werden; hierüber soll an späterer Stelle noch gesprochen werden.

Weiterhin sind vor allem wichtig die Fälle, bei denen die Sera mit dem Fötalleber- und dem Herzextrakt sicher positiv, also +++ (+) und ++++, reagierten. Das sind 1501. Unter diesen ergab 1307mal auch der Pferdenebennierenextrakt ein sicher positives Resultat. 77mal zeigte er (+) schwächer an, also +++, 61mal +, also +++ und ++(+). 30mal betrug die Differenz +(+), und 26mal ++ und mehr.

Bei den restlichen 4093 Untersuchungen, die eine schwach positive Reaktion ergaben, stimmte in 2211 Fällen der Pferdenebennierenextrakt mit den beiden anderen überein, in 808 Fällen mit wenigstens einem der beiden anderen, in 36 Fällen steht der Wert des Nebennierenextraktes zwischen den Werten der beiden anderen Extrakte. 49 Seren reagierten mit dem Pferdenebennierenextrakt und einem der beiden anderen sicher positiv, während der dritte schwächer anzeigte. 931mal zeigte der Pferdenebennierenextrakt schwächer an als Fötalleber- und Cholesterinherzextrakt, 135mal stärker.

Eine genaue Auswertung der spezifischen Wirksamkeit des Pferdenebennierenextraktes im Hinblick auf primäre, sekundäre, tertiäre, latente und behandelte Lues und spätsyphilitische Erkrankungen ist in unserem Fall unmöglich, da der serologische Untersucher nicht gleichzeitig klinisch genau beobachten kann, sondern sich auf die Diagnose verlassen muß, unter der die Sera zur Untersuchung eingeschickt werden. In manchen Fällen, besonders den von auswärts eingesandten, fehlt die Begleitdiagnose ganz; im klinischen Betrieb wird das Blut für die Wassermannreaktion gewöhnlich gleichzeitig mit dem für die Senkung am ersten Tag des Krankenhausaufenthalts beim Patienten abgenommen, zu einem Zeitpunkt also, wo häufig eine genaue Diagnose noch nicht gestellt ist, und dem zu untersuchenden Serum wird eine naheliegende Vermutungsdiagnose beigegeben.

Zusammenfassung.

Seit etwa 14 Jahren wird der Pferdenebennierenextrakt neben dem luetischen Fötalleber- und dem Cholesterin-Rinderherzextrakt bei der WaR. benutzt.

Unter annähernd 35000 Fällen der letzten 6 Jahre konnte eine unspezifische Hemmung der Hämolyse über die Fehlergrenzen der beiden anderen Extrakte hinaus mit Sicherheit nicht festgestellt werden. Die Möglichkeit wird in 10 Fällen zugegeben.

Bei den sicher positiven Seren zeigte der Pferdenebennierenextrakt in 87 Proz. in derselben Stärke an wie die beiden anderen Extrakte, in 13 Proz. weniger stark. Bei den schwächer positiven Seren ergab der Pferdenebennierenextrakt in etwa 3,3 Proz. eine stärkere Hemmung, in etwa 22 Proz. eine nicht so starke Hemmung der Hämolyse, während in 74,7 Proz. die Ergebnisse mit den beiden anderen Extrakten oder wenigstens einem übereinstimmten.

Der Pferdenebennierenextrakt kann als sehr gut brauchbares Antigen zur WaR. empfohlen werden, besonders wenn daneben sehr empfindliche Extrakte benutzt werden und als Endergebnis der Mittelwert genommen wird. Bei positivem Ausfall der Reaktion mit dem Nebennierenextrakt kann mit einem etwas höheren Grad von Sicherheit das Serum als luetisch verändert bezeichnet werden.

Literatur.

Boattini und Nonnis, Ref. Zentralbl. f. Haut- und Geschlechtskr., 1931.
Bruck, Die Serodiagnose der Syphilis. Berlin, Julius Springer, 1909.
Emmerich, Verhandl. d. Deutsch. Patholog. Gesellschaft. Jena 1931.
Fleischmann, Berlin. klin. Wochenschr., 1908.
Guggenheim, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1924.
de Gaetani, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1930/31.
Georgi und Fischer, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1930.
Hoeltzer und Ssuschkawa, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1930.
— — Zeitschr. f. Immunitätsf., 1931.
Jermoljewa, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1928.
Laubenheimer, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 7.
Nagell, Dermatol. Wochenschr., 1930.
Plaut und Kassowitz, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1930.
Pöhlmann, Die WaR. in ihrer Bedeutung für die spez. Pathologie und Therapie der Syphilis. München, Müller und Steinicke, 1931.
Sachs und Altmann, Berliner klin. Wochenschr., 1908.
— Klopstock und Weil, Deutsche med. Wochenschr., 1925.
— — — Deutsche med. Wochenschr., 1925.

Sachs und Rondoni, Berlin. klin. Wochenschr., 1908 und Zeitschr. f. Immunitätsf., 1919.
Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., 1911.
Stern, C., Deutsche med. Wochenschr., 1921.
— Klin. Wochenschr., 1927.
Thannhauser, Stoffwechsel und Stoffwechselkrankheiten. München, J. F. Bergmann, 1929.
Weisbach, WaR. und Flockungsreaktionen nach Sachs-Georgi und Meinecke im Lichte neuerer Forschung. Jena, Gustav Fischer, 1921.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Prosektor Dr. Emmerich für die Ueberlassung des Themas dieser Arbeit und für seine freundliche Förderung bei der Ausarbeitung, sowie Herrn Professor Dr. Dold für die Uebernahme des Referats meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.
Printed in Germany.

Lebenslauf.

Geboren in Düsseldorf am 13. Januar 1908 als Sohn des jetzt emeritierten Professors Dr. med. Karl Stern, besuchte ich von 1914 bis 1926 die Vorschule und das humanistische Hohenzollern-Gymnasium in Düsseldorf, studierte in Kiel — wo ich das medizinische Vorexamen machte —, Erlangen, Düsseldorf, Rostock, und beendete am 30. Juli 1931, ebenfalls in Kiel, mein Staatsexamen.

Seit 1. September 1931 bin ich am hiesigen Städtischen Krankenhaus als Medizinalpraktikant tätig.